

# 分子イメージング技術を利用したエマルション製剤 の物理安定性評価

著者	大貫 義則
雑誌名	星薬科大学紀要
号	54
ページ	11-18
発行年	2012
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1240/00000145/">http://id.nii.ac.jp/1240/00000145/</a>

## 分子イメージング技術を利用したエマルジョン製剤の物理安定性評価

大 貫 義 則

星薬科大学 薬剤学教室

## Evaluation of physical stability of emulsion-based formulations using a molecular imaging technique, MRI

Yoshinori ONUKI

Department of Pharmaceutics, Hoshi University

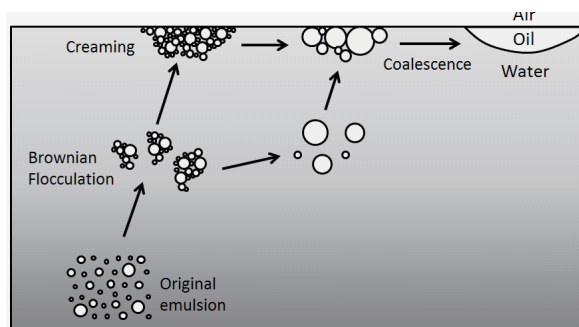
## 1. はじめに

今日の医療において、磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI) は、欠かせない分子イメージング技術である。MRI は、水のプロトンの核磁気共鳴現象 (nuclear magnetic resonance, NMR) を利用することで非侵襲的に検体内部の様子を可視化している。さらに、分子の拡散性やプロトンの回転運動などを表わす MR パラメータを用いて画像化することにより、MRI は検体内の水の分子運動性を可視化することも可能である。このような特徴から、近年では、医療分野だけでなく、科学・産業の様々なシーンで MRI が盛んに利用されるようになってきた。

薬剤・製剤の分野に目を向けてみると、製剤の機能を決定する重要特性の中には、水の分子運動性が深く関与してものも多い。したがって、製剤研究を行う上でも、MRI は有用なツールになり得ると考えられる。現時点では、製剤研究への MRI の利用はかなり限定されているものの、例えば、放出制御型マトリックス錠の膨潤挙動や薬物の放出挙動などについては、これまでに MRI を用いた様々な検討が行われ、興味深い知見が得られている<sup>1-11)</sup>。また、最近では、フロースルーセルが内蔵された卓上型 MRI など開発され、溶出試験を行いながら錠剤内部の崩壊や膨潤挙動を非侵襲的に観察することも可能になっている<sup>11, 12)</sup>。

MRI は、クリーム剤のようなエマルジョン製剤の物理安定性を評価する上でも、非常に有用であると考えられる。一般的にエマルジョンの物理安定性の劣化は、油滴のフロキュレーション、クリーミング、合一といった過程を経て進行していく (Fig.1)<sup>13, 14)</sup>。フロキュレーションやクリーミングは可逆的な劣化現象であり、攪拌などによって元の分散状態へ戻ることができるものの、ひとたび油滴の合一が起きると、元の状態へ戻ること

はい<sup>15, 16)</sup>。油滴の合一が進行し、見た目に明らかな相分離を生じているようなエマルジョン製剤では、製剤としての品質が著しく損なわれていることは言うまでもない。MRI を用いることで、製剤内部の相分離や油滴の合一挙動などを可視化できれば、エマルジョン製剤の物理安定性を深く理解できるものと期待される。本稿では、MRI を応用したエマルジョン製剤の新規製剤安定性評価方法の構築および油滴の合一挙動に関する機構研究について紹介したい。



**Figure 1.** Schematic of mechanisms leading to phase separation of cream formulations. In general, the dispersion stability of o/w emulsions deteriorates via three processes: flocculation of dispersed-phase oil droplets because of buoyancy, creaming, and coalescence.

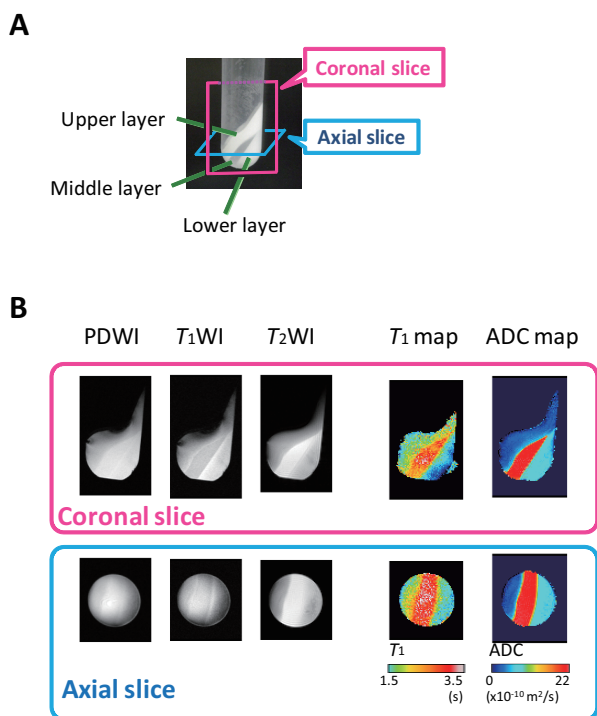
## 2. MRI を利用したエマルジョン製剤の新規製剤安定性評価法の構築

エマルジョン製剤の製剤安定性を評価するため、これまでに様々な方法が考案されている (油滴の粒子径評価<sup>17)</sup>、エマルジョンの物性評価<sup>18)</sup>、加速試験<sup>19, 20)</sup>、遠心分離法<sup>21)</sup>、動的光散乱<sup>22, 23)</sup>、濁度評価<sup>24)</sup> など)。こうした多様な評価法にも関わらず、未だ適切な評価方法が構築されたとは言い難い。大きな理由として、従来のような

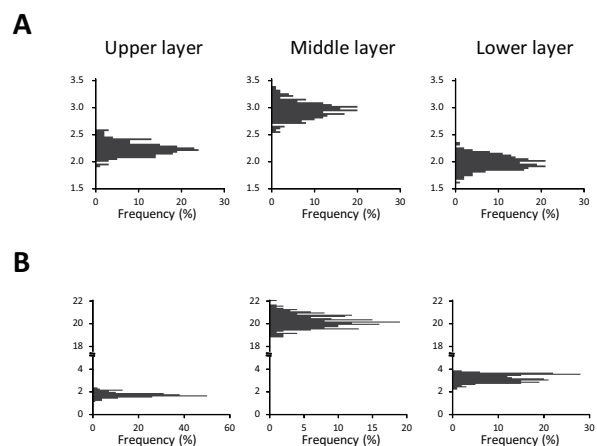
破壊的・侵襲的方法では、(1) 試料を測定に適した容器に移す必要があるため、市販品などではありのままの物性を評価することが難しいこと、(2) 同一試料を長期間に渡って評価することが難しいことなどが挙げられる。

筆者は、MRI を応用することで、新たな評価法の構築を試みた。MRI は非破壊的かつ非侵襲的な方法であるため、市販されるエマルション製剤をそのまま評価することができる。また、同一試料を長期間に渡って継続的に観察し続けることも可能である。したがって、従来の方法に代わる優れた評価法として大いに期待できる。検討として、まず、MRI によって試料内部の相分離の様子を観察できるか検証することとした。試料としては、遠心分離 (74000 g, 3h) を行い、見た目にもはっきりとした相分離が観察されるエマルションを用いることとした (Fig. 2A)。試料は3層に分離しており、白濁した上層および下層は油相成分を豊富に含む層であり、透明な中間層は主に水から成る層であると考えられる。この試料内部をMRIによって観察したところ、一般的なMR画像 [ $T_1$ 強調画像 ( $T_1$ WI)、 $T_2$ 強調画像 ( $T_2$ WI)、プロトン密度強調画像 (PDWI)] では、目視で確認されるような相分離を識別することは困難であった (Fig. 2B)。MRI は主に試料内の水由来のMRシグナルを画像化しており、油滴成分が多い領域 (上層および下層) と水の多い領域 (中間層) とでは、水分量だけでなく、水の分子状態も大きく異なっていると考えられる。したがって、上記のようなMR画像では、そうした水分子の複雑な状態を識別することが困難であったものと考えられる。そこで、続いての検討では、 $T_1$ 緩和時間画像 ( $T_1$  map) および見かけの拡散係数画像 (ADC map) などの水の分子運動性の可視化技術を応用することとした。なお、 $T_1$ 緩和時間はプロトンの回転運動を、ADCは分子の拡散性を表すパラメータである。実験の結果、水の分子状態を可視化することで、試料内部の相分離の様子は鮮明に捉えられた (Fig. 2B)。

さらに、それぞれの画像から、 $T_1$ 緩和時間およびADCのデータを抽出し、試料中の水分子の状態解析を行った。その結果、いずれのMRパラメータも、中間層に比べて、上層および下層で低値を示した (Fig. 3)。このことは、上層および下層において、水分子が著しく構造化されたことを表している。上層および下層は油相成分を豊富に含んでおり、大部分の界面活性剤はこれらの層に分布していると考えられる。界面活性剤は、近傍の水分子を構造化し、分子の運動性を著しく制限する。このような理由によって、油相成分を大量に含む上層および中間層では、著しい水分子の構造化が見られたと考えられる。以上の結果から、MRIの水分子運動性の可視化技術を駆使することによって、エマルション製剤の



**Figure 2.** Noninvasive monitoring of phase separation of emulsion using MRI. (A) Optical photo of the test sample (#7). The sample was centrifuged at 74,000  $\times$  g for 3 h. The upper and lower layers appeared cloudy, indicating that oil droplets were concentrated in these layers, while the fairly clear middle layer seemed to be mostly composed of water. (B) MR images of the centrifuged sample. The coronal and axial slices correspond to pink and light-blue areas in Fig. 2A, respectively.

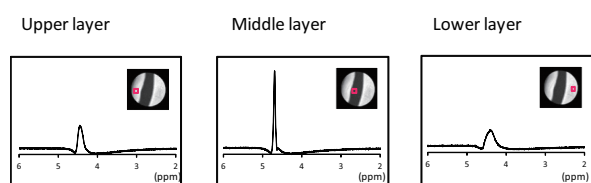


**Figure 3.** Histograms of  $T_1$  relaxation time (A) and ADC (B) of each layer. These histograms were generated by random sampling of 200 MR parameters from each layer in the maps shown in Fig.2B.

相分離を非侵襲的に観察できることが示された。

さらに筆者は、局所 NMR スペクトル取得技術である MR スペクトロスコピー法 (MRS) を応用し、各層の成分分析を試みた。医療分野では、MRS は生体内の代

謝物の検出などを目的とした研究が広く進められている。例えば、脳神経領域では、N-アスパラギン酸 (NAA) や乳酸、コリンの代謝物が検出できるため、脳虚血や脳腫瘍のシグナルを検出できる方法として臨床応用されつつある。本検討では、それぞれの層の関心領域 (region-of-interest, ROI) から  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルを取得し、水由来の 4.7ppm 付近のピーク強度を比較した。その結果、上層および下層に比べて、中間層で高いピーク強度が確認され、この領域は他の領域よりも大量の水分を含むことが確認された (Fig. 4)。この結果は、目視観察による考察ともよく一致している。以上より、本手法に MRS を組み入れることで、より強力な評価法を構築できると考えられる。



**Figure 4.**  $^1\text{H}$ -NMR spectra of each layer acquired by STEAM. The box in each inserted figure shows selective ROIs ( $1 \times 1 \text{ mm}$ ). Acquisition parameters were as follows: TR of 2000 ms, TE of 11.7 ms, average of 128 scans. The peak at 4.7 ppm is derived from water.

### 3. 新規製剤安定性評価方法の実用性

上記の検討によって構築された新規評価法の実用性を評価するため、実際の製剤開発に近い条件で検討を行った。HLB 値はエマルションの分散安定性に非常に大きな影響を与えることが知られている<sup>17, 25-27)</sup>。そのため、

エマルション製剤の処方検討において HLB 値の最適化は、最重要課題の 1 つである。本検討では、Table 1 に示すように HLB 値を 8.6 ~ 16.5 まで変化させたモデル製剤を調製し、HLB 値による製剤安定性への影響を評価した。なお、検討では、相分離を促進させるため、試料を 60 ° で保存し、経時的に試料内部の様子を観察した。MRI による経時的な試料内部の観察により、試料間での明確な相分離挙動の違いが明らかになった (Fig. 5)。例えば、HLB 値の高い試料 (#6 - #8, HLB = 14.5-16.5) では、相分離が著しく進行し、実験開始後 1 週間程度で明確な相分離が観察された。また、HLB 値の低い試料 (#1- #3, HLB = 8.6-11.0) は、徐々に相分離が進行していく様子が確認された。一方で、試料 #4 および #5 (HLB = 12-13) は、相分離が生じにくく、本モデル製剤における最適な HLB 値を有していることが示された。

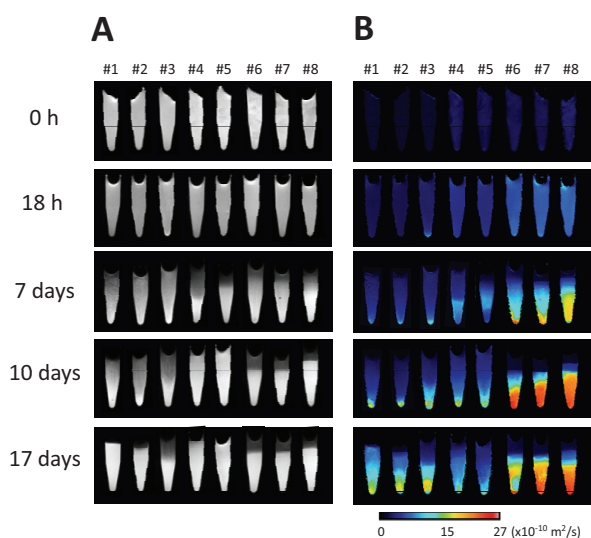
MRI による非侵襲的モニタリングは、市販製剤のように容器内部の様子を確認することのできない試料に対して非常に有効である (ただし、金属製のチューブなどは適用不可)。そこで、市販製剤の容器として使用されるポリエチレン (PE) チューブに試料を充填し、本手法によって、チューブ内部の相分離の様子を観察することにした。なお、試料には、先の検討で著しい相分離が認められた #7 を用いた。また、市販製剤は、薬局などで、縦置きおよび横置きの状態で保存・陳列されている。このような保存状態の違いも製剤の物理安定性に大きく影響すると考えられる。そこで、縦置きおよび横置きといった保存状態の違いによる製剤安定性への影響についても併せて検討を行った (Fig. 6A)。2 週間 60 ° で保存した PE チューブ内部の様子を観察したところ、PE チュー

Table 1. Formulation of model emulsions with different HLB value

	Sample #							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Surfactants								
BB-20 <sup>1</sup>	1.0	1.3	1.6	1.9	2.1	2.5	2.7	3.0
SS-10MV <sup>2</sup>	2.0	1.7	1.4	1.1	0.9	0.5	0.3	0.0
Oily phase								
Stearic acid	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Cetanol	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Glyceryl trioctanoate	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Aqueous phase								
Water	79.0	79.0	79.0	79.0	79.0	79.0	79.0	79.0
HLB values <sup>3</sup>	8.6	9.8	11.0	12.2	13.0	14.5	15.3	16.5

<sup>1</sup> Polyoxyethylene behenyl ether (HLB=16.5), <sup>2</sup> Sorbitan monostearate (HLB=4.7),

<sup>3</sup> HLB values were adjusted by varying the amounts of surfactants.



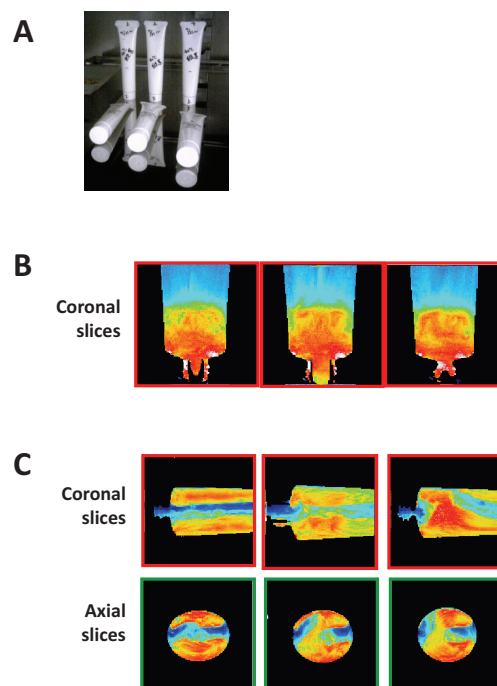
**Figure 5.** Visualization of phase-separation behaviors of emulsions depending on HLB values. Emulsions with different HLB values packed in a PCR tube (0.5 mL) were stored at 60 °C for designated intervals and then continuously monitored using  $T_2$ WIs (A) and ADC maps (B). ADC maps clearly showed a difference in phase-separation behavior: emulsions with higher HLB values separated substantially into an oil-droplet-rich layer and an aqueous layer, while phase separation with lower HLB values developed gradually. In addition, the observation suggested that the optimal HLB value was at about 12-13.

ブ内部で試料が相分離している様子を捉えることができた。縦置き保存の試料からは、比較的単純にチューブ上部と下部とで相分離している様子が観察された一方、横置き保存の試料では、複雑な相分離の様相が確認された (Fig. 6B および C)。

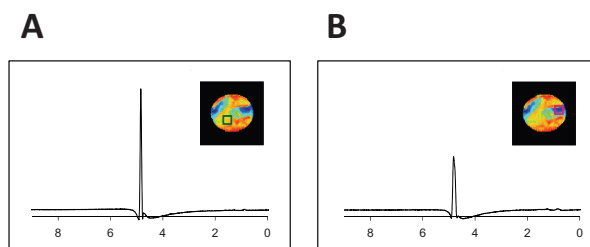
なお、先の検討結果から、ADC の低い領域は油滴の多い層、高い領域は水相であると考えられる。そこで、このことを確認するため、それぞれの関心領域の NMR スペクトルを MRS によって取得した (Fig. 7)。その結果、予想通り、ADC の高い領域から、強度の高い水由来のピーク (4.7ppm) が認められ、この領域が水分含量の多い領域であることが明らかになった。以上の結果より、本手法は、エマルション製剤の開発段階から、市販品の品質管理に至る様々な場面で活用できると考えられる。

#### 4. エマルション製剤中の水分子運動性の解析と油滴合一挙動への寄与

エマルションに配合された界面活性剤は、油滴界面で水分子を構造化し、油滴全体を覆う水和層を形成させる。そして、その水和層が油滴同士の合一を防ぐことで、油滴が水相中で安定に分散できると考えられている。界面活性剤が水分子を構造化すると、水の分子運動性も大き



**Figure 6.** Visualization of phase separation of emulsion occurring naturally in a PE tube. (A) Storage condition of the samples. The samples were stored standing vertically or lying horizontally at 60 °C for 14 days. ADC map of the samples stored standing vertically (B) and lying horizontally (C). With regard to the sample stored lying horizontally, maps of both coronal and axial slices were acquired.

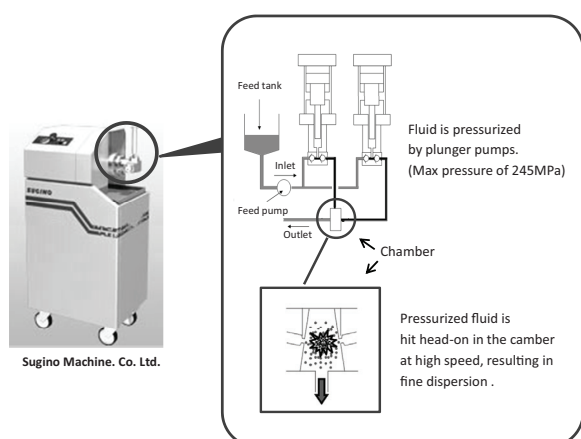


**Figure 7.**  $^1\text{H}$ -NMR spectra of ROIs with high (A) and low (B) ADC acquired by STEAM. Selective ROIs ( $2 \times 2 \times 2$  mm) shown as boxes in DWIs inserted in the upper right corner. Acquisition parameters were as follows: TR of 2000 ms, TE of 10.53 ms, average of 256 scans.

く変化する。そこで、筆者は、エマルション製剤に含まれる水の分子運動性と油滴の合一挙動との関係について検討を行った。

試料の調製として、日本薬局方収載親水クリームの方を基に界面活性剤添加量を変化させた数種類のエマルションを調製し、超高压湿式ジェットミルを用いて、試料の油滴の微細化処理を行った (Fig. 8)。なお、このジェットミルは、分散・乳化能に優れた湿式微粒化装置であり、さらに、短期間で微粒化が可能であること、コンタミネーションのリスクが低いこと、連続処理が可

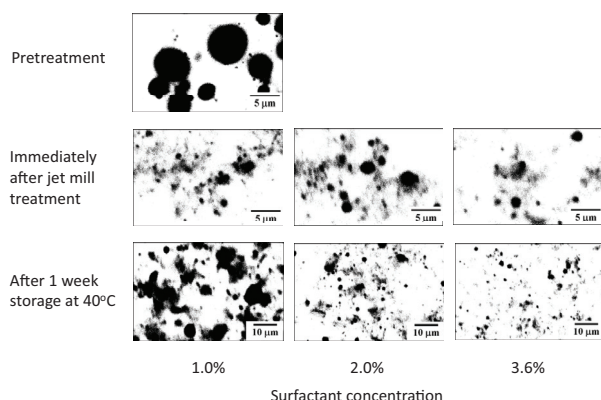




**Figure 8.** High-pressure wet-type jet mill and its schematic diagram.

能でスケールアップが容易であるなどから、工業的利用の面からも様々な利点を有している。

ジェットミルで処理した試料はSEMで観察し、そのSEM写真から油滴の粒子径を求めた。Fig. 9およびTable 2に、特徴的なSEM写真と各試料の粒子径を示す。実験の結果、処理前 ( $5.97\ \mu\text{m}$ ) と比較して、ジェットミルで処理した油滴の粒子径は著しく小さい値 ( $1.73 \sim 1.76\ \mu\text{m}$ ) を示した。また、界面活性剤添加量に関わらず、油滴の粒子径はほぼ一定であったことから、ジェットミルによる微細化処理は非常に強力であり、界面活性剤などの処方成分の影響を受けないことが明らかになった。引き続き、これらの試料を1週間40℃で保存したところ、界面活性剤添加量の比較的多い試料 (2.0および3.6%) では、油滴の粒子径は維持され、合一が進みにくい傾向が認められた。一方で、界面活性剤添加量の少ない試料 (1.0%) では、合一が進行し、油滴の粒子



**Figure 9.** Scanning electron microscopy (SEM) microgram of oil droplets in the model emulsions. The emulsions varying the surfactant contents in a range of 1.0 to 3.6% were treated with the jet mill at a processing pressure of 150 MPa. SEM was performed immediately after treatment with the jet mill and after 1 week storage at 40℃. The pretreatment sample containing 1.0% surfactant is shown as a control.

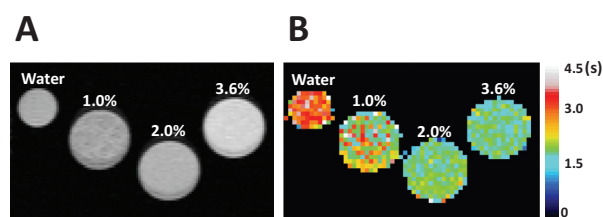
**Table 2.** Change in oil droplet size ( $\mu\text{m}$ ) after treatment with the jet mill

Surfactant concentration (%)	1.0	2.0	3.0
Pretreatment	$5.97 \pm 2.78$	-	-
Immediately after treatment	$1.76 \pm 0.58$	$1.73 \pm 0.60$	$1.73 \pm 0.49$
After 1 week storage at 40℃	$503 \pm 2.57$	$2.16 \pm 1.09$	$1.79 \pm 0.76$

The jet mill treatment was performed at the processing pressure of 150 MPa. Each value represents the mean  $\pm$  S.D. (n=100)

径 ( $5.03\ \mu\text{m}$ ) は処理前とほぼ同じサイズまで増大した。

続いて、MRIを用いて各試料の  $T_1$  緩和時間画像を撮像し (Fig. 10)、 $T_1$  緩和時間を算出した。なお、 $T_1$  緩和時間は、水の分子運動性の違いによって大きく変化することが知られており、構造化された水 (すなわち結合水) の  $T_1$  緩和時間は、自由水に比べ、著しく短い値を示す<sup>28-30)</sup>。検討の結果、試料の  $T_1$  緩和時間は、界面活性剤添加量の増大に伴って、短縮する傾向が認められた (Fig. 11)。いずれの試料も同一条件でジェットミルの微細化処理を行っており、油滴の粒子径はほぼ同じである。このことから、界面活性剤量の添加によって、水分子が構造化される様子が確認された。さらに本研究では、ジェットミルの処理圧力や1週間40℃での保存による  $T_1$  緩和時間への影響についても、同様の検討を行い、得られた結果を分散分析によって評価した。その結果、試料の  $T_1$  緩和時間は、ジェットミルの処理圧力や1週間の保存による影響は一切受けず、界面活性剤の添加量による影響のみを受けることが明らかになった (Table 3)。過去の検討結果から、筆者は、ジェットミルの処理圧力や保存条件の違いによって、油滴の粒子径が著しく変化することを明らかにしている<sup>31)</sup>。したがって、今回の検討に用いたエマルションの場合、 $T_1$  緩和時間は、油滴の形状には無関係であり、界面活性剤によって構造

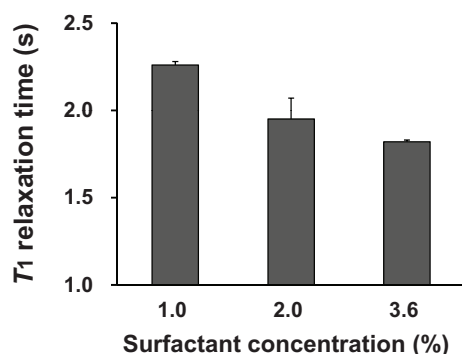


**Figure 10.**  $T_1$ -weighted image (A) and quantitative  $T_1$  map (B) of emulsion-based formulations just after treated with the jet mill. (A) Spin-echo sequence of effective echo time (TE) and repetition time (TR) gave  $\text{TR}/\text{TE} = 300/14.54\ \text{ms}$ , field of view of  $30 \times 30\ \text{mm}$ , matrix size of  $128 \times 128$  pixels and 1 mm axial slice thickness. (B)  $T_1$  map of fresh samples. Gradient echo pulse sequence with  $\text{TE} = 1.54\ \text{ms}$  and six different inversion times (TIs) (200, 400, 800, 1400, 2000 and 3000 ms), field of view of  $30 \times 30\ \text{mm}$ , matrix size of  $64 \times 64$  pixels and 1 mm axial slice thickness. Red spots represent longer  $T_1$  relaxation times, whereas blue spots represent shorter  $T_1$  relaxation times. The samples were purified water and skin cream formulations containing 1.0%, 2.0%, or 3.6% surfactant.

Table 3. ANOVA table for  $T_1$  relaxation time of the model emulsions

Factors	Df <sup>a</sup>	SS <sup>b</sup>	F <sub>o</sub> <sup>c</sup>
Processing pressure of the jet mill	1	0.023	2.88
Surfactant concentration of skin cream base	2	0.976	60.56 <sup>**</sup>
Time lag to measurement from jet mill treatment	1	0	0.01

<sup>a</sup> degrees of freedom, <sup>b</sup> square sum, <sup>c</sup> observed  $F$  value. <sup>\*\*</sup>  $p < 0.01$



**Figure 11.** Changes in  $T_1$  relaxation times of emulsion-based formulations as a function of surfactant concentration. The processing pressure of the jet mill used for treating the samples was 150 MPa. Each value represents the mean  $\pm$  SD ( $n = 6$ ).

化された水分子の量のみを反映する指標であると考えられる。

以上の結果から、界面活性剤による水分子の構造化がエマルジョン製剤の油滴の合一挙動に深く関与することが明らかになった。すなわち、ジェットミルで微細化処理を行うと、処方に関係なく、試料中の油滴は一様に微細化される。一方で、試料中で界面活性剤によって構造化される水分子の量は、界面活性剤の添加量に依存する。このため、界面活性剤量の少ない試料では、微細化処理によって生じた新たな界面を被覆するだけの構造化され

た水分子がないため、結果として、油滴同士の合一が繰り返されて、油滴の粒子径は増大したと考えられる。

## 5. 結語

筆者は、MRI による水分子運動性の可視化技術を駆使し、エマルジョン製剤の物理安定性を評価するための新規評価法を構築した。本手法は、試料内部の相分離の様子を鮮明に捉えることができ、さらに、関心領域の NMR スペクトルを取得して成分分析を行うことも可能である。従来の評価方法よりも極めて優れた評価方法である。

また、「油滴界面に存在する界面活性剤が水を構造化し、油滴全体を薄い水の層で被覆することによって油滴の合一は妨げられ、安定な分子状態を示す」といった一連の機構は、従来から考えられてきたエマルジョンの分散安定化機構であるが、これまでにこの機構が実験的に検証されたことはない。筆者は、MRI から得られた水分子運動性に関する情報と SEM による油滴の観察から、この機構を実験的に検証することに成功した。これらの知見は、エマルジョン製剤の物理安定性を考える上で非常に有益な情報になると考えられる。

## 謝辞

本研究を遂行するに当たり、平成 23 年度星薬科大学大谷記念研究助成金を賜りましたことに対し、大谷卓男理事長ならびに中嶋暉躬前学長に深く感謝申し上げます。また、本研究の遂行のために、ご指導・ご協力を賜りました星薬科大学薬剤学教室の高山幸三教授、西川昌人博士をはじめとする同教室員の皆様、MRI 測定について多大なるご指導・ご協力を賜りましたアジレント栗林秀人博士、モデル製剤をご提供いただきました池田模範堂堀田敬紘氏に深謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) S. Kikuchi, Y. Onuki, H. Kuribayashi, K. Takayama, Relationship between diffusivity of water molecules inside hydrating tablets and their drug release behavior elucidated by magnetic resonance imaging, *Chem Pharm Bull*, 60 (2012) 536-542.
- 2) C.A. Fyfe, A.I. Blazek-Welsh, Quantitative NMR imaging study of the mechanism of drug release from swelling hydroxypropylmethylcellulose tablets, *J Control Release*, 68 (2000) 313-333.
- 3) J. Tritt-Goc, N. Pilewski, Magnetic resonance imaging study of the swelling kinetics of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) in water, *J Control Release*, 80 (2002) 79-86.
- 4) J. Tritt-Goc, J. Kowalczyk, N. Pilewski, Magnetic resonance imaging study of the transport phenomena of solvent into the gel layer of hypromellose matrices containing tetracycline hydrochloride, *J Pharm Pharmacol*, 55 (2003) 1487-1493.
- 5) J.C. Richardson, R.W. Bowtell, K. Mader, C.D. Melia, Pharmaceutical applications of magnetic resonance imaging (MRI), *Adv Drug Deliver Rev*, 57 (2005) 1191-1209.
- 6) C. Dahlberg, A. Fureby, M. Schuleit, S.V. Dvinskikh, I. Furó, Polymer mobilization and drug release during tablet swelling. A  $^1\text{H}$  NMR and NMR microimaging study, *J Control Release*, 122 (2007) 199-205.
- 7) K.P. Nott, Magnetic resonance imaging of tablet dissolution, *Eur J Pharm Biopharm*, 74 (2010) 78-83.

- 8) K. Huanbutta, P. Sriamornsak, S. Limmatvapirat, M. Luangtana-Anan, Y. Yoshihashi, E. Yonemochi, K. Terada, J. Nunthanid, Swelling kinetics of spray-dried chitosan acetate assessed by magnetic resonance imaging and their relation to drug release kinetics of chitosan matrix tablets, *Eur J Pharm Biopharm*, 77 (2011) 320-326.
- 9) J. Kowalczyk, J. Tritt-Goc, A possible application of magnetic resonance imaging for pharmaceutical research, *Eur J Pharm Sci*, 42 (2011) 354-364.
- 10) R. Bowtell, J.C. Sharp, A. Peters, P. Mansfield, A.R. Rajabi-Siahboomi, M.C. Davies, C.D. Melia, NMR microscopy of hydrating hydrophilic matrix pharmaceutical tablets, *Magn Reson Imaging*, 12 (1994) 361-364.
- 11) H. Metz, K. Mader, Benchtop-NMR and MRI--a new analytical tool in drug delivery research, *Int J Pharm*, 364 (2008) 170-175.
- 12) V. Malaterre, H. Metz, J. Ogorka, R. Gurny, N. Loggia, K. Mader, Benchtop-magnetic resonance imaging (BT-MRI) characterization of push-pull osmotic controlled release systems, *J Control Release*, 133 (2009) 31-36.
- 13) S. Kumar, G. Narsimhan, D. Ramkrishna, Coalescence in Creaming Emulsions. Existence of a Creaming-Free Zone, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 35 (1996) 3155-3162.
- 14) P. Becher, *Encyclopedia of emulsion technology*, Volume 1: Basic Theory, Marcel Dekker, New York, 1983.
- 15) M.L. Johns, K.G. Hollingsworth, Characterisation of emulsion systems using NMR and MRI, *Prog Nucl Mag Res Sp*, 50 (2007) 51-70.
- 16) M.L. Johns, NMR studies of emulsions, *Curr Opin Colloid In*, 14 (2009) 178-183.
- 17) M. Hessian, N. Singh, C. Kim, E. Prouzet, Stability and Tunability of O/W Nanoemulsions Prepared by Phase Inversion Composition, *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, (2011).
- 18) G.C. Onunkwo, M.U. Adikwu, Stability of veegum/mucuna gum emulsions, *S.T.P. Pharma Sci*, 7 (1997) 320-325.
- 19) K. Shinoda, H. Arai, The correlation between phase inversion temperature in emulsion and cloud point in solution of nonionic emulsifier, *J Phys Chem*, 68 (1964) 3485-3490.
- 20) R.D. Vold, M.C. Acevedo, Comparison of ultracentrifugal stability parameters with long-term shelf stability of emulsions, *J Am Oil Chem Soc*, 54 (1977) 84-90.
- 21) F.R. Formiga, I.A. Fonseca, K.B. Souza, A.K. Silva, J.P. Macedo, I.B. Araujo, L.A. Soares, E.S. Egito, Influence of a lipophilic drug on the stability of emulsions: an important approach on the development of lipidic carriers, *Int J Pharm*, 344 (2007) 158-160.
- 22) A. Shukla, M. Janich, K. Jahn, A. Krause, M.A. Kiselev, R.H. Neubert, Investigation of pharmaceutical oil/water microemulsions by small-angle scattering, *Pharm Res*, 19 (2002) 881-886.
- 23) A. Shukla, A. Krause, R.H. Neubert, Microemulsions as colloidal vehicle systems for dermal drug delivery. Part IV: Investigation of microemulsion systems based on a eutectic mixture of lidocaine and prilocaine as the colloidal phase by dynamic light scattering, *J Pharm Pharmacol*, 55 (2003) 741-748.
- 24) M.G. Song, S.H. Jho, J.Y. Kim, J.D. Kim, Rapid Evaluation of Water-in-Oil (w/o) Emulsion Stability by Turbidity Ratio Measurements, *J Colloid Interface Sci*, 230 (2000) 213-215.
- 25) J.P. Macedo, L.L. Fernandes, F.R. Formiga, M.F. Reis, T.N. Junior, L.A. Soares, E.S. Egito, Micro-emultocrit technique: a valuable tool for determination of critical HLB value of emulsions, *AAPS PharmSciTech*, 7 (2006) E21.
- 26) L.F. Woodard, R.L. Jasman, Stable oil-in-water emulsions: preparation and use as vaccine vehicles for lipophilic adjuvants, *Vaccine*, 3 (1985) 137-144.
- 27) W.C. Griffin, Classification of surface-active agents by HLB, *J. Soc. Cosmet. Chem*, 1 (1949) 311-326.
- 28) J. Kristl, G. Lahajnar, K. Jezernik, J. Smid-Korbar, Water behaviour in poly(methylmethacrylate) hydrocolloids studied by NMR techniques and electron microscopy, *S.T.P. Pharma Sci*, 2 (1992) 265-269.
- 29) A. Blinc, G. Lahajnar, R. Blinc, A. Zidansek, A. Sepe, Proton NMR study of the state of water in fibrin gels, plasma, and blood clots, *Magn Reson Med*, 14 (1990) 105-122.
- 30) I. Katzhendler, K. Mader, R. Azoury, M. Friedman, Investigating the structure and properties of hydrated hydroxypropyl methylcellulose and egg albumin matrices containing carbamazepine: EPR and NMR study, *Pharm Res*, 17 (2000) 1299-1308.
- 31) M. Nishikawa, Y. Onuki, Y. Okuno, K. Takayama, Improving rheological characteristics of hydrophilic ointment base by treatment with a high-pressure wet-type jet mill, *Drug Dev Ind Pharm*, 36 (2010) 625-631.



Evaluation of physical stability of emulsion-based formulations using  
a molecular imaging technique, MRI

Yoshinori ONUKI

*Department of Pharmaceutics, Hoshi University*

Recently, MRI has attracted much attention for the characterization of pharmaceuticals. I believe that MRI will bring about great benefit for evaluation of the physical stability of emulsion-based formulations. The initial part of the review concerns the establishment of a novel method to monitor phase-separation behavior in emulsions. The key technique was visualization of the molecular mobility of water; in particular, ADC maps were demonstrated to be a promising technique for monitoring phase separation occurring in emulsions. I also integrated MR spectroscopy into the method. This allowed us to analyze the component of a selective region-of-interest (ROI). The new method is superior to the conventional methods in every respect. The latter part of the review focuses on a study investigating the contribution of the state of water in emulsion-based formulations to the coalescence behavior of oil droplets. Emulsions treated with a high-pressure wet-type jet mill were used as model formulations. Spin-lattice relaxation times ( $T_1$ ) were measured using MRI to estimate the amount of bound water in samples. The  $T_1$  relaxation time became shorter with increasing surfactant content. Observations using scanning electron microscopy (SEM) showed that an increase in the amount of bound water prevented oil droplets from coalescing. The findings indicated that the state of water plays an important role in the physical stability of an emulsion-based formulation. This review will offer profound insight into the physical stability of emulsion-based formulations.